

## 【製品内容】

- robo TRANsCER™ (0.5 mg) 10 本 または 20 本

## 【本製品以外の必要試薬】

- Cas9 タンパク質 (NLS を有する)
- ガイド RNA (sgRNA または crRNA/tracrRNA)
- 複合体形成用バッファー (Opti-MEM™ または Nuclease free water を推奨)
- robo TRANsCER™ 溶解用バッファー (HBSS を推奨)
- FBS 非含有培地

## 【保存】

### 冷凍保存 (-80°C を推奨)

- 本品は、開封後なるべく早く (お買い求めになった日から半年以内に) ご使用ください。
- バッファーによる溶解後は直ちにご使用ください。(使用する直前のバッファー添加を推奨)

**【推奨プロトコール】**

**推奨濃度: 14.6 – 58.4 nM ※本プロトコールでは処理濃度 29.2 nM について記載します。**

	操作	詳細				
Day 0	セミコンフルエントになるように細胞を播種	plate	96 well	24 well	6 well	
		細胞数*	1 – 3 × 10 <sup>4</sup>	3 – 5 × 10 <sup>4</sup>	2 – 5 × 10 <sup>5</sup>	
Day 1	Cas9 RNP 溶液を調製* (右記の全量に応じた複合体形成用バッファー中にて調製)	ガイド RNA	5.84 (pmol)	14.6 (pmol)	58.4 (pmol)	
		Cas9 タンパク質	5.84 (pmol)	14.6 (pmol)	58.4 (pmol)	
		全量	20 (μL)	50 (μL)	200 (μL)	
	インキュベーション (10 min)					
	インキュベーション中、ラベル記載量の溶解用バッファー (HBSS を推奨) を robo TRANSsCER™ チューブに添加し、ボルテックスして完全溶解させる					
	robo TRANSsCER™ 溶液をフィルターろ過 (0.22 μm セルロースメンブレンを推奨)					
	robo TRANSsCER™ 希釈液を調製*	plate	96 well	24 well	6 well	
		robo TRANSsCER™	10 (μL)	25 (μL)	100 (μL)	
		複合体形成用バッファー	10 (μL)	25 (μL)	100 (μL)	
	Cas9 RNP 溶液を robo TRANSsCER™ 希釈液中に添加し、穏やかにピペッティング					
	インキュベーション (15 min)					
	インキュベーション中、FBS 非含有培地にて細胞を 2 回 wash					
	robo TRANSsCER™/Cas9 RNP を右記のように FBS 非含有培地と混合したのち、細胞へ処理	plate	96 well	24 well	6 well	
robo TRANSsCER™/Cas9 RNP		40 (μL)	100 (μL)	400 (μL)		
FBS 非含有培地		160 (μL)	400 (μL)	1600 (μL)		
処理容量		200 (μL)	500 (μL)	2000 (μL)		
インキュベーション (4 h)**						
細胞を 2 回 wash 後、FBS 含有培地を添加						
Day 2-5**	ゲノム編集効果を評価					

※ ご使用される細胞種によって、播種数、処理濃度、処理時間などの条件を適宜ご変更いただけます。

ただし、Cas9 RNP 溶液と robo TRANSsCER™ 希釈液の混合比は固定してください。

※ FBS 含有培地添加後のインキュベーション時間は、ゲノム編集の評価系に応じてご調整ください。ゲノム DNA やメッセンジャー RNA のアッセイ系では処理 1 日後でも十分ですが、細胞内半減期が長いタンパク質量などを指標にゲノム編集効果を評価する際には 3 – 5 日程度の培養を推奨しております。